

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15359

研究課題名(和文) 異常型 シヌクレインの多様な高次構造は疾患特異的な病態を引き起こすか？

研究課題名(英文) Research on prion-like propagation of distinct alpha-synuclein strains derived from human synucleinopathies

研究代表者

樽谷 愛理 (Tarutani, Airi)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・特任助教

研究者番号：10815187

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：シヌクレインが蓄積する疾患であるレビー小体型認知症(DLB)及び多系統萎縮症(MSA)患者脳から抽出した異常型シヌクレインは構造的・生化学的に異なるプリオン様性質を示した。またこれらの患者脳由来異常型シヌクレインの培養細胞への添加及び野生型マウス脳内接種を行うと、両者のプリオン様性質は全く異なり、MSA由来シードが高い活性を示すのに対し、DLB由来シードは非常に低い活性のみを示した。これらの結果から、シヌクレイノパチーにおける異なるプリオン様性質が明らかとなり、シヌクレインの"strains"の存在が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経変性疾患における臨床的、病理学的多様性はプリオンの性質の1つである異なる高次構造をもつ異常型タンパク質の"strains"(株)で説明可能である。本研究ではシヌクレイノパチー患者脳から抽出した病原性シードを網羅的に用いることにより、シヌクレインのstrainにおけるプリオン様性質の違いが明らかとなり、患者脳シードを用いたプリオン様伝播実験モデルの有用性が示された。

研究成果の概要(英文)：The concept that abnormal protein aggregates show prion-like propagation between cells has been considered to explain the onset and progression of many neurodegenerative diseases. Indeed, both synthetic amyloid-like fibrils and pathogenic proteins extracted from patients' brains induce self-templated amplification and cell-to-cell transmission in vitro and in vivo. We investigated in detail the prion-like seeding activities of pathogenic α -synuclein(α -syn) extracted from patients with α -synucleinopathy. Pathogenic α -syn seeds derived from dementia with Lewy bodies (DLB) and multiple system atrophy (MSA) showed structurally and biochemically distinct prion-like properties. Moreover, pathogenic α -syn derived from MSA exhibited higher seeding activity than those derived from DLB in cultured cells and wild-type mouse brains. These results indicate the presence of α -syn strains in α -synucleinopathy.

研究分野：病態神経科学

キーワード：プリオン様伝播 神経変性疾患 シヌクレイン プリオン strain(株)

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病やパーキンソン病 (PD) をはじめとする神経変性疾患は、認知症の約7割を占める原因疾患である。現在、高齢化に伴う認知症患者の増加が予想されており、神経変性疾患に対する治療法の開発が期待されている。神経細胞及びグリア細胞における特定のタンパク質の凝集、蓄積は、多くの神経変性疾患に共通した特徴病変である。これら細胞内異常タンパク質は、チオフラビン陽性のアミロイド様線維として蓄積し、リン酸化およびユビキチン化を受けている。これまで行われた死後脳の神経病理学的解析から、異常タンパク質病変の脳内分布や広がり臨床症状と密接に関連することが示されている。近年、これらの異常タンパク質が、プリオンのように自身を鋳型 (シード) として正常型タンパク質を異常型に変換することで増幅し、細胞間を伝播するという「プリオン様伝播」が提唱され、病変が脳内に広がる根本的なメカニズムとして注目されている。現在、病理構成タンパク質の合成線維および患者脳画分が、培養細胞やモデル動物においてプリオン様伝播を引き起こすことが多数実証されている。しかしその分子メカニズムの詳細はほとんど不明のままである。私たちは最近、シヌクレインが蓄積する疾患の総称であるシヌクレイノパチーとして知られるPDやレビー小体型認知症 (DLB)、多系統萎縮症 (MSA) 患者脳において蓄積しているシヌクレインを用いて、培養細胞及び野生型マウスのプリオン様伝播モデルにおいて高いシード能を示す分子種の検討を行なった。その結果、断片化したシート構造に富むアミロイド様線維が最もシード能が高く、効果的にプリオン様伝播を引き起こす分子種であることが明らかとなった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、異常型シヌクレインのうち異なる構造的、生化学的性質を示す“strain”がプリオン様伝播においてシード能に与える影響を明らかにすることである。さらにプリオン様伝播では、異常型タンパク質が自身を鋳型にして、正常型タンパク質を異常型に変換する二次的な核形成が連続して起こると考えられている。この連続的な核形成において、病理を構成するアミロイド様線維の断片化が主要なシード産生過程の一つであることが示唆されており、“strain”の違いが二次的なシード産生効率にどのような影響をもたらすかについても検討する。

3. 研究の方法

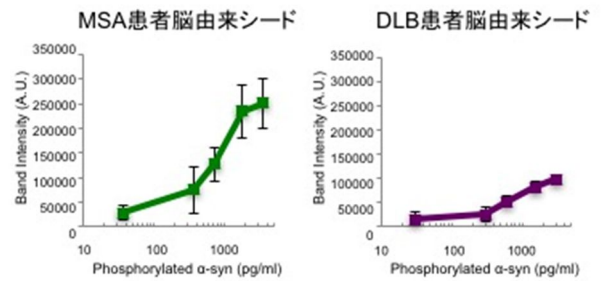
シヌクレインが蓄積する疾患群であるシヌクレイノパチーから界面活性剤不溶性画分を抽出し、イムノプロット及び電子顕微鏡観察を行い、疾患ごとのプリオン様性質の生化学的及び形態的分類を行った。また得られた病原性シードを SH-SY5Y 細胞及び野生型マウス脳に導入し、伝播能を定量的に評価し、合成シヌクレイン線維が呈する伝播能との比較を行った。さらに英国 MRC 分子生物学研究所との共同研究により MSA 患者脳由来の異常型シヌクレイン線維のクライオ電子顕微鏡による構造解析を行った。

4. 研究成果

シヌクレイノパチーであるレビー小体型認知症 (DLB) 及び多系統萎縮症 (MSA) 患者脳から界面活性剤不溶性画分を抽出し、これらの画分を用いた解析から以下の知見を得た。電子顕微鏡観察により両者の異常型シヌクレインは異なる線維構造を呈すること、また不溶性画分のイムノプロットにより異なる高分子バンドパターンを示すことが明らかになった。さらにこれらの患

者脳シードを SH-SY5Y 細胞に導入すると、両者の伝播能は全く異なり、MSA 由来シードが 高い活性を示すのに対し、DLB 由来シードは非常に低い活性のみを示した。MSA 由来シードの希釈系列を同細胞に導入し、シード依存的な凝集に必要な最低量を調べた結果、100 pg/mL という低濃度でも伝播能を示すことが明らかとなった。また、両シードの野生型マウス脳への接種を行うと、培養細胞と同様の伝播能の違いが観察された。DLB 由来

患者脳由来異常型 α シヌクレインの プリオン様伝播能の違い



シード を接種したマウス脳では、接種後 9 ヶ月で初期病変と思われるレビーニューライト様病変が観察されたのに対し、MSA 由来シードを接種したマウスでは、接種後 3 ヶ月で神経細胞におけるリン酸化 シヌクレインの蓄積が観察された。興味深いことに MSA 由来シード を接種したにも関わらず、その特徴病変であるオリゴドンドロサイト内における病変は観察されなかった。以上の結果から、シヌクレイノパチーにおける異なるプリオン様性質が明らかとなり、シヌクレインの "strains" の存在が示唆された。さらに本研究で用いた MSA 患者脳由来シードのクライオ電子顕微鏡による構造解析により、疾患特異的な線維コア構造を原子レベルで理解するに至った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Tarutani Airi, Arai Tetsuaki, Murayama Shigeo, Hisanaga Shin-ichi, Hasegawa Masato	4. 巻 6
2. 論文標題 Potent prion-like behaviors of pathogenic α -synuclein and evaluation of inactivation methods	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 6(1):29
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40478-018-0532-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Franco Rafael, Aguinaga David, Reyes Irene, Canela Enric I., Lillo Jaume, Tarutani Airi, Hasegawa Masato, del Ser-Badia Anna, del Rio Jose A., Kreutz Michael R., Saura Carlos A., Navarro Gemma	4. 巻 11
2. 論文標題 N-Methyl-D-Aspartate Receptor Link to the MAP Kinase Pathway in Cortical and Hippocampal Neurons and Microglia Is Dependent on Calcium Sensors and Is Blocked by α -Synuclein, Tau, and Phospho-Tau in Non-transgenic and Transgenic APPSw, Ind Mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 11:273
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnmol.2018.00273	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Tarutani Airi and Hasegawa Masato.	4. 巻 168
2. 論文標題 Prion-like propagation of α -synuclein in neurodegenerative diseases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Progress in Molecular Biology and Translational Science	6. 最初と最後の頁 323-348
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/bs.pmbts.2019.07.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Zhang Wenjuan, Tarutani Airi, Newell Kathy L., Murzin Alexey G., Matsubara Tomoyasu, Falcon Benjamin, Vidal Ruben, Garringer Holly J., Shi Yang, Ikeuchi Takeshi, Murayama Shigeo, Ghetti Bernardino, Hasegawa Masato, Goedert Michel, Scheres Sjors H. W.	4. 巻 580
2. 論文標題 Novel tau filament fold in corticobasal degeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 283 ~ 287
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1038/s41586-020-2043-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 樽谷愛理、長谷川成人	4. 巻 37(9)
2. 論文標題 シヌクレインとプリオン様伝播	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1068-1072
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Airi Tarutani, Tetsuaki Arai, Shigeo Murayama, Shin-ichi Hisanaga, Taisuke Tomita, Masato Hasegawa
2. 発表標題 Characterization and inactivation of pathogenic α -synuclein species
3. 学会等名 Neuroscience 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Airi Tarutani, Tetsuaki Arai, Shigeo Murayama, Shin-ichi Hisanaga, Taisuke Tomita, Masato Hasegawa
2. 発表標題 Distinct prion-like seeding properties of α -synuclein strains and assessment of inactivation methods.
3. 学会等名 WCN19 XXIV WORLD CONGRESS OF NEUROLOGY (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----